

535,430  
10/535430

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
17 juin 2004 (17.06.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 2004/050092 A1**

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> :  
**A61K 31/4375, 35/78, A61P 33/02, C07D 471/16**

**POUPON, Erwan** [FR/FR]; 1C, rue des Iris, F-92160  
Antony (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR2003/003459

(74) Mandataires : **ORES, Béatrice** etc.; Cabinet Ores, 36, rue  
de Saint Petersburg, F-75008 Paris (FR).

(22) Date de dépôt international :  
24 novembre 2003 (24.11.2003)

(81) États désignés (*national*) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,  
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,  
DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH,  
GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,  
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW,  
MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC,  
SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,  
UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :  
02/14729 25 novembre 2002 (25.11.2002) FR

(84) États désignés (*régional*) : brevet ARIPO (BW, GH, GM,  
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet  
eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet  
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,  
FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK,  
TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,  
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(71) Déposants (*pour tous les États désignés sauf US*) : **IN-  
STITUT DE RECHERCHE POUR LE DEVELOPPE-  
MENT** [FR/FR]; 213, rue La Fayette, F-75480 Paris Cedex  
10 (FR). **UNIVERSITE NATIONALE D'ASUNCION**  
[PY/PY]; Rio de la Plata y la gerenza, CC2511 Asuncion  
(PY).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (*pour US seulement*) : **FER-  
REIRA, Maria-Elena** [PY/PY]; Juan de Mema, C/ Cerro  
Cora, Lague (PY). **FOURNET, Alain** [FR/FR]; 506,  
chemin de Tastet, F-40590 Ossages (FR). **ROJAS DE  
ARIAS, Antonieta** [PY/PY]; C/ Concordia y Florida,  
1165 Atilio Pena (PY). **HOCQUEMILLER, Reynald**  
[FR/FR]; 9, rue d'Arpajon, F-91470 Limours (FR).

**Publiée :**

- avec rapport de recherche internationale
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des  
revendications, sera republiée si des modifications sont re-  
çues

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrégia-  
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et  
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de  
la Gazette du PCT.

(54) Title: USE OF CANTHIN-6-ONE, PLANT EXTRACTS CONTAINING SAME AND DERIVATIVES THEREOF IN THE  
TREATMENT OF TRYPANOSOMIASIS

(54) Titre : UTILISATION DE LA CANTHIN-6-ONE, DES EXTRAITS DE PLANTES LA CONTENANT ET DE SES DERIVES  
DANS LE TRAITEMENT DE LA MALADIE DE CHAGAS

(57) Abstract: The invention concerns the use of canthin-6-one from plant extracts containing same, in particular canthin-6-one  
in the form of a *Zanthoxylum chiloperone* of the *angustifolium* variety, and some of its derivatives for making a medicine for the  
treatment of trypanosomiasis, in particularly for treating Chagas disease.

(57) Abrégé : L'invention a pour objet l'utilisation de la canthin-6-one des extraits de plantes la contenant, en particulier de la  
canthin-6-one sous forme d'un extrait de *Zanthoxylum chiloperone* var. *angustifolium*, et de certains de ses dérivés pour la fabrication  
d'un médicament destiné au traitement des trypanosomiasis, en particulier au traitement des trypanosomiasis.

WO 2004/050092 A1

UTILISATION DE LA CANTHIN-6-ONE, DES EXTRAITS DE PLANTES LA CONTENANT ET DE SES DERIVES DANS LE TRAITEMENT DES TRYPANOSOMIASES

L'invention a pour objet l'utilisation de la canthin-6-one, des extraits de  
5 plantes la contenant et de certains de ses dérivés pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des trypanosomiasés, en particulier au traitement de la maladie de Chagas.

En Amérique Latine, environ 90 millions de personnes vivent dans des régions où la maladie de Chagas est endémique. Environ 18 à 20 millions de personnes  
10 sont déjà infectées par l'agent responsable de cette maladie : *Trypanozoma* (*Schizotrypanum*) *cruzi*.

Les traitements chimiothérapeutiques de cette maladie reposent à ce jour sur deux familles de molécules : les nitrofuranes, comme par exemple le nifurtimox, et les nitroimidazoles, comme par exemple le benznidazole. Ces composés peuvent avoir une  
15 efficacité sur la maladie de Chagas au début de l'infection, mais ils en ont peu ou pas du tout sur cette maladie lorsque *Trypanosoma cruzi* s'est installé dans l'organisme et que la maladie a pris un caractère chronique.

A ce stade, cette maladie est considérée à ce jour comme incurable.

Les traitements au nifurtimox et au benznidazole sont en outre  
20 confrontés à l'apparition de souches résistantes de *Trypanosoma cruzi*, ce qui diminue encore leur efficacité dans la phase première de la maladie de Chagas. Enfin, ces deux molécules ont des effets secondaires non négligeables tels que l'anorexie, les vomissements, la neuropathie périphérique et la dermatopathie allergique.

Le besoin se faisait donc sentir d'un traitement de la maladie de Chagas  
25 qui soit efficace tant dans la première phase de la maladie, où *Trypanosoma cruzi* est présent essentiellement dans le sang, que dans la seconde phase de cette maladie, où l'on trouve *Trypanosoma cruzi* essentiellement dans les organes : cœur, système digestif.

La canthin-6-one est un composé connu qui a été isolé à partir de plantes telles que : *Ailanthus altissima* (Simaroubaceae) par Ohmoto *et al.*, Chem. Pharm. Bull.,  
30 1976, 24, 1532-1536 ; *Brucea antidysenterica* (Simaroubaceae) par Fukamiya *et al.*, Planta Med., 1987, 53, 140-143 ; *Eurycoma harmandiana* (Simaroubaceae) par Kachanapoom *et al.*, Phytochemistry, 2001, 56, 383-386 ; *Peganum nigellastrum* (Zygophyllaceae) par Ma *et al.*, Phytochemistry, 2000, 53, 1075-1078.

La canthin-6-one a été identifiée dans un extrait de *Zanthoxylum*  
35 *elephantiasis* (Rutaceae) par Mitscher *et al.*, Lloydia, 1972, 35, 177-180.

Des activités thérapeutiques de la canthin-6-one ou d'extraits végétaux la contenant ont été rapportées dans les indications suivantes :

le traitement de la malaria par Kordonno *et al.*, J. Nat. Prod., 1991, 54(5), 1360-1367 ; comme agent antitumoral, par Fukamiya *et al.*, Planta Med., 1987, 53(2), 140-143 ; comme agent antifongique par Mitscher *et al.*, Lloydia, 1972, 35(2), 177-180.

5 *Zanthoxylum chiloperone*, d'où l'on a extrait la canthin-6-one pour la mise en œuvre de l'invention, est connu pour son utilisation en médecine traditionnelle comme antiinflammatoire, comme antipyrétique, contre les rhumatismes et comme antiparasitaire général.

Toutefois, rien dans l'art antérieur ne laissait supposer que la canthin-6-one était susceptible de constituer un traitement de la maladie de Chagas, tant dans sa  
10 phase première ou aiguë que dans sa phase chronique.

L'invention a donc pour objet l'utilisation de la canthin-6-one, d'extraits de plante la contenant et de certains de ses dérivés qui seront définis ci-dessous pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des trypanosomiasés, en particulier le traitement de la maladie de Chagas.

15 La canthin-6-one a été isolée à partir de l'écorce du tronc d'une rutacée identifiée comme *Zanthoxylum chiloperone* var. *angustifolium*.

Cette plante a été récoltée au Paraguay, près de Piribebuy dans le département de Cordillera. Un exemplaire de cette plante a été enregistré auprès de l'Herbarium de la Faculté de Chimie d'Asuncion au Paraguay sous le numéro AF917.

20 Par un procédé qui sera décrit ci-dessous ont été isolés plusieurs extraits de *Zanthoxylum chiloperone* var. *angustifolium*. On a également isolé la canthin-6-one elle-même à partir de cette plante. Toutefois on peut également mettre en œuvre l'invention à partir de canthin-6-one isolée des autres plantes qui la contiennent et qui ont été énumérées plus haut. On peut également utiliser des extraits de *Ailanthus altissima*, de  
25 *Brucea antidysenterica*, d'*Eurycoma harmandiana*, de *Peganum Nigellastrum* ou de *Zanthoxylum elephantiasis* la contenant pour mettre en œuvre l'invention.

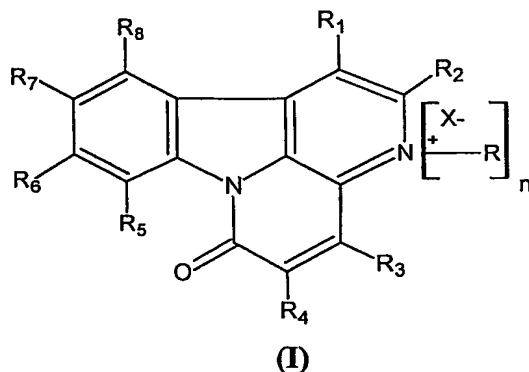
Selon un mode préféré de réalisation de l'invention les extraits de *Zanthoxylum chiloperone* var. *angustifolium* et l'isolement de la canthin-6-one ont été réalisés suivant un procédé comportant une première étape qui consiste à broyer les  
30 écorces séchées du tronc de *Zanthoxylum chiloperone* var. *angustifolium* puis à les traiter par une solution alcaline aqueuse, comme par exemple par une solution aqueuse d'ammoniaque.

Le mélange obtenu est extrait par un solvant organique chloré comme par exemple du dichlorométhane.

35 La canthin-6-one peut ensuite être isolée et purifiée par des moyens bien connus de l'homme du métier tels que l'extraction, le lavage, la chromatographie, la précipitation, la recristallisation.

Le même procédé ou un procédé analogue peut être utilisé sur d'autres plantes contenant la canthin-6-one pour en obtenir des extraits comprenant la canthin-6-one ou pour isoler ce composé.

D'autres composés dérivés de la canthin-6-one peuvent être isolés des plantes citées ci-dessus par des méthodes analogues. On peut également préparer des dérivés de la canthin-6-one par des méthodes de synthèses bien connues de l'homme du métier en utilisant comme produit de départ la canthin-6-one ou tout autre composé approprié. En particulier, l'invention concerne les dérivés répondant à la formule (I) ci-dessous et leur utilisation pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement d'une trypanosomiase :



Dans la formule (I),  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $R_5$ ,  $R_6$ ,  $R_7$ ,  $R_8$  représentent indépendamment l'un de l'autre :

- un atome d'hydrogène,
- un groupement alkyle en  $C_1$ - $C_{12}$  linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé,
- un atome d'halogène choisi parmi le chlore, le fluor, le brome et l'iode,
- un groupement halogénoalkyle en  $C_1$ - $C_{12}$  dont la chaîne alkyle peut être linéaire, ramifiée ou cyclique, saturée ou insaturée, et le ou les atomes d'halogène sont choisis parmi le fluor, le chlore, le brome et l'iode,
- une fonction hydroxyle,
- une fonction nitro -NO
- une fonction cyano -CN
- une fonction -SH
- une fonction acide carboxylique -COOH
- une fonction amide -CONH<sub>2</sub>
- une fonction amine -NH<sub>2</sub>
- une fonction alcoxy en  $C_1$ - $C_{12}$  dans laquelle le groupement alkyle peut être linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé,

- une fonction ester d'alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, dans laquelle le groupement alkyle peut être linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé

- une fonction alkyl amide secondaire ou tertiaire dans laquelle le ou les groupements alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> peuvent être linéaires, ramifiés ou cycliques, saturés ou insaturés,

- une fonction alkylamine secondaire ou tertiaire dans laquelle le ou les groupements alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> peuvent être linéaires, ramifiés ou cycliques, saturés ou insaturés,

- une fonction alkylthio en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, dans laquelle le groupement alkyle peut être linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé

- un groupement hétérocyclique en C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> comportant 1 à 4 hétéroatomes choisis parmi le soufre, l'azote et l'oxygène,

- un groupement -SO<sub>2</sub>-NR'R'' ou un groupement -NR'-SO<sub>2</sub>-R'' dans lesquels R' et R'' représentent indépendamment l'un de l'autre un groupement alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé ;

n représente 0 ou 1 ;

R représente un groupement alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé,

X<sup>-</sup> représente un anion qui peut être choisi parmi les anions minéraux ou organiques tels que par exemple l'ion Cl<sup>-</sup>, l'ion Br<sup>-</sup>, l'ion I<sup>-</sup>, l'ion S<sup>-</sup>, l'ion PO<sub>3</sub><sup>-</sup>, l'ion NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, l'ion acétate, l'ion oxalate, l'ion tartarate, l'ion succinate, l'ion maléate, l'ion fumarate, l'ion gluconate, l'ion citrate, l'ion malate, l'ion ascorbate, l'ion benzoate.

La canthin-6-one correspond à la formule (I) dans laquelle :

R<sub>1</sub> = R<sub>2</sub> = R<sub>3</sub> = R<sub>4</sub> = R<sub>5</sub> = R<sub>6</sub> = R<sub>7</sub> = R<sub>8</sub> = H et n=0.

L'invention a donc pour objet un composé répondant à la formule (I) telle que définie ci-dessus, dans laquelle l'un au moins de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> et R<sub>8</sub> est différent de H ou alors dans laquelle n=1.

Elle a également pour objet un médicament, comprenant un composé répondant à la formule (I) telle que définie ci-dessus, dans laquelle l'un au moins de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> et R<sub>8</sub> est différent de H, ou alors dans laquelle n=1, dans un support pharmaceutiquement acceptable.

Préférentiellement, l'invention a pour objet l'un des composés de formule (I) dans laquelle l'une ou plusieurs des conditions ci-dessous sont remplies :

- R<sub>3</sub> représente un groupement NH<sub>2</sub> ou un groupement alkylamine en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> ou un groupement alkylamide en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> ou un hétérocycle en C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> comprenant au moins une fonction amine ;

- R<sub>4</sub> représente un groupement hydroxyle ou un groupement alcoxy en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> ;

- $R_1 = R_2 = R_5 = R_6 = R_7 = R_8 = H$ .

Encore plus préférentiellement, l'invention a pour objet l'un des composés de formule (I) dans laquelle l'une ou plusieurs des conditions ci-dessous sont remplies :

- $R_3$  représente un groupement  $NH_2$  ou un groupement alkylamine en  $C_1-C_6$  ou un groupement alkylamide en  $C_1-C_6$  ou un hétérocycle en  $C_2-C_6$  comprenant au moins une fonction amine ;

- $R_4$  représente un groupement hydroxyle ou un groupement alcoxy en  $C_1-C_6$  ;

- $R_1 = R_2 = R_5 = R_6 = R_7 = R_8 = H$ .

Encore plus préférentiellement, l'invention a pour objet l'un des composés de formule (I) dans laquelle l'une ou plusieurs des conditions ci-dessous sont remplies :

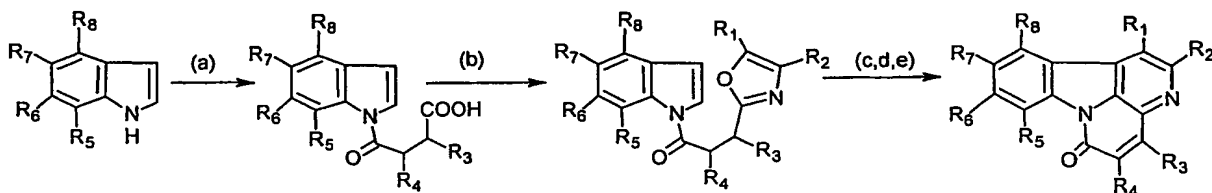
- $R_3$  représente un groupement  $NH_2$  ;
- $R_4$  représente un groupement  $OCH_3$  ;
- $R_1 = R_2 = R_5 = R_6 = R_7 = R_8 = H$ .

Selon une autre variante préférée de l'invention, le composé de l'invention est choisi parmi les composés de formule (I) dans laquelle  $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = R_7 = R_8 = H$  et  $n=1$ . Selon cette variante, avantageusement, R est un groupement alkyle en  $C_1-C_6$ . Encore plus avantageusement R est choisi parmi les groupements méthyle et éthyle.

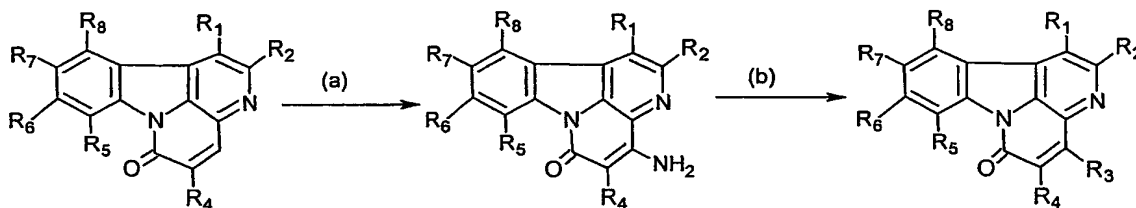
De façon avantageuse, le composé de formule (I) est choisi parmi :

- la 4-amino canthin-6-one ;
- l'iodure de N-méthyl canthin-6-one ;
- la 5-méthoxy canthin-6-one.

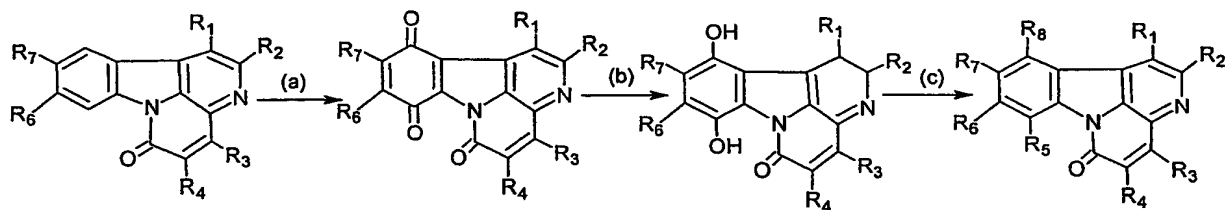
Les molécules de l'invention peuvent être obtenues en suivant l'une des voies de synthèse résumées dans les schémas ci-dessous. Les exemples de préparation donnés dans la partie expérimentale illustrent également des voies d'accès à ces composés. L'adaptation de ces voies de synthèse aux différents produits répondant à la formule (I) fait appel aux connaissances générales de l'homme du métier.

Schéma 1 :

**Légende :** (a) anhydride succinique substitué ; (b) formation d'oxazoles substitués ; (c) réaction d'aza-Diels-Alder ; (d) déshydratation ; (e) oxydation de la liaison 4-5.

Schéma 2 :

**Légende :** (a) voir exemple 2 ci-dessous ; (b) modifications de la fonction amine primaire.

Schéma 3 :

**Légende :** (a) oxydation en quinone ; (b) réduction ; (c) dérivatisations ou modifications des hydroxyles.

On connaît deux formes de trypanosomias, l'une est causée par l'agent *Trypanosoma brucei* et est plus connue sous le nom de maladie du sommeil, l'autre est causée par l'agent *Trypanosoma cruzi* et est connue comme la maladie de Chagas. L'invention s'intéresse préférentiellement à la préparation d'un traitement efficace contre *Trypanosoma cruzi*.

La canthin-6-one a montré dans les tests d'activité qui sont exposés en détail ci-dessous une efficacité étonnante contre *Trypanosoma cruzi*, en particulier à des doses dix fois plus faibles que les doses auxquelles le benznidazole est efficace.

Selon l'invention, la canthin-6-one, des extraits de plantes la contenant, ou des dérivés de la canthin-6-one, tels que ceux répondant à la formule (I) définie ci-dessus, seront mis en œuvre pour traiter des individus infectés par une trypanosomiase, en particulier pour traiter des individus infectés par *Trypanosoma cruzi*, à une dose comprise  
5 entre 0,01 et 100 mg/kg/j de canthin-6-one ou d'un dérivé de formule (I), de préférence entre 0,1 et 50 mg/kg/j, encore plus préférentiellement entre 1 et 20 mg/kg/j.

Avantageusement, le traitement sera formulé sous forme de doses quotidiennes comprenant de 0,2 mg à 1 g de canthin-6-one ou d'un dérivé de formule (I), préférentiellement de 2 à 500 mg, encore plus préférentiellement de 5 à 200 mg.

10 La canthin-6-one, les extraits de plantes la contenant et ses dérivés de formule (I) peuvent être administrés par voie orale ou parentérale, associés à tout véhicule pharmaceutique approprié. Préférentiellement, la canthin-6-one les extraits de plantes la contenant et ses dérivés de formule (I) sont administrés par voie orale.

L'invention sera mieux comprise à l'aide des exemples suivants destinés  
15 à l'illustrer.

#### **EXEMPLES :**

##### **Matériel et méthodes**

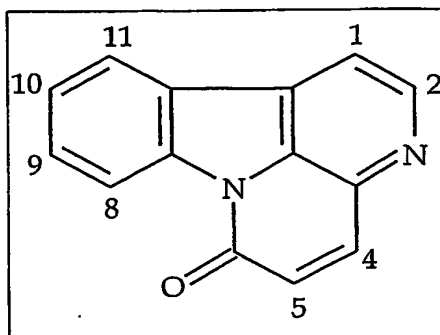
Les spectres UV ont été obtenus sur un spectromètre Philips PU 8720. Les spectres IR ont été mesurés sur un spectromètre Perkin-Elmer 257 dans des pastilles de KBr. Les  
20 spectres NMR  $^1\text{H}$  et  $^{13}\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) ont été obtenus sur un appareil Bruker AC-200 or AC-400 à une fréquence de respectivement 200 et 50 MHz ou de 400 et 100 MHz, respectively. Les EIMS et CIMS (méthane) ont été mesurés sur un spectromètre Nermag R10-10C. La CLHP semi-preparative a été faite à l'aide d'un détecteur Waters 590 relié à un enregistreur ABB SE 120, avec un système Millipore-Waters (Milford MA, USA)  
25 équipé d'une pompe 590, d'un injecteur SSV, et d'une colonne Prepak 1000 Millipore  $\text{C}_{18}$ .

##### **Exemple 1 : Isolement de la canthin-6-one et de la 5-méthoxy-canthin-6-one :**

Le procédé d'extraction des écorces de *Zanthoxylum chiloperone* est  
30 représenté sur la figure 1 :

L'écorce séchée du tronc de *Zanthoxylum chiloperone* (1,9 kg) est traitée au dichlorométhane dans un appareil Soxhlet pour donner, après évaporation du solvant 44g d'extrait de plante. Cet extrait est redissout puis purifié par chromatographie flash sur colonne de silice en utilisant un mélange acétate d'éthyle/dichlorométhane (8 : 2) comme  
35 éluant. On récupère 9 fractions de 250 ml chacune, numérotées 1 à 9 dans l'ordre d'élution. Les fractions  $f_{3b}$  à  $f_5$  sont combinées pour donner 3,2 g de la canthin-6-one après évaporation des solvants et cristallisation dans l'acétone.

La fraction  $f_6$  est purifiée par CLHP préparative en utilisant comme solvant un mélange de méthanol et d'eau (7 : 3) pour donner 150 mg de 5-méthoxycanthin-6-one après cristallisation dans l'acétone.



Canthin-6-one

 $C_{14}H_8N_2O$  : 220

La canthin-6-one cristallise dans l'acétone sous forme d'aiguilles jaune pâle.

Le point de fusion (PF), déterminé sur banc de Köfler, est de 162°C.

**Spectre UV :** MeOH<sub>max</sub> nm (log  $\epsilon$ ) (dans le MeOH à 0,05g/l) : 225 (1,70), 251 (1,35), 260 (1,40), 268 (1,40), 362 (1,33), 379 (1,29) ; (+ HCl 0,5N) : 225 (Non déterminable), 266 (1,49), 273 (1,49), 304 (1,56), 360 ; (+ NaOH 1N) : 225 (Non déterminable), 251 (1,54), 259 (1,55), 267 (1,50), 362 (1,33), 379 (1,29).

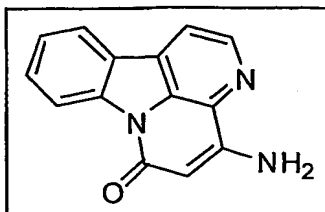
**Spectre IR :** 1665, 1630  $cm^{-1}$

**Spectre RMN  $^1H$  :** 400 MHz (CDCl<sub>3</sub>) \_ ppm : 6,90 (d, 1H,  $J = 9,8$  Hz, H<sub>5</sub>) ; 7,50 (td, 1H,  $J = 8,5$  ; 7,5 et 1 Hz, H<sub>10</sub>) ; 7,70 (td, 1H,  $J = 8,2$  ; 8,5 et 1 Hz, H<sub>9</sub>) ; 7,90 (d, 1H,  $J = 5$  Hz, H<sub>1</sub>) ; 8,00 (d, 1H,  $J = 9,8$  Hz, H<sub>4</sub>) ; 8,10 (dt, 1H,  $J = 7,5$  et 1 Hz, H<sub>11</sub>) ; 8,65 (dt, 1H,  $J = 8,2$  et 1 Hz, H<sub>8</sub>) ; 8,80 (d, 1H,  $J = 5$  Hz, H<sub>2</sub>).

**Spectre RMN  $^{13}C$  :** 50MHz (CDCl<sub>3</sub>) \_ ppm : 116,4 (C<sub>1H</sub>), 117,2 (C<sub>8H</sub>), 122,6 (C<sub>11H</sub>), 124,3 (C<sub>12</sub>), 125,7 (C<sub>10H</sub>), 129,0 (C<sub>5H</sub>), 130,1 (C<sub>13</sub>), 130,7 (C<sub>9H</sub>), 131,9 (C<sub>14</sub>), 136,2 (C<sub>3a</sub>), 139,3 (C<sub>7a</sub>), 139,6 (C<sub>4H</sub>), 145,9 (C<sub>2H</sub>), 159,0 (C<sub>6</sub>).

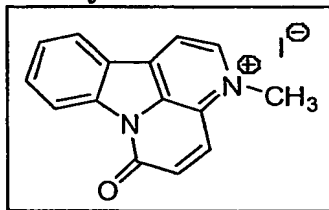
**Spectre de masse :** [fragment ion]  $m/z$  (%) [M+Na]<sup>+</sup> 243 (100%)

**Analyse élémentaire :** C : 76,42 ; H : 3,68 ; N : 12,86 %.

**Exemple 2 : Procédé de synthèse de dérivés de la canthin-6-one****■ 4-amino canthin-6-one :**C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O - PM 235

- 5 La canthin-6-one (100 mg – 0,45 mmol) est mise en suspension dans une solution saturée d'azoture de sodium (50 mL). Du diméthylformamide est ajouté jusqu'à l'obtention d'une solution limpide. Un excès de bromure de zinc est additionné (1 g) et le milieu porté à reflux jusqu'à consommation du produit de départ (réaction suivie par chromatographie sur couche mince, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1). Le milieu réactionnel refroidi est
- 10 largement dilué par de l'eau puis extrait au dichlorométhane (4 fois). Les phases organiques réunies sont séchées (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) puis concentrées sous pression réduite. La 4-amino canthin-6-one est purifiée par chromatographie « flash » sur colonne de silice (0,3 bar, élution : CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 95:5), 74 mg (70 %).

- On obtient un solide poudreux jaune : spectre RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : δ ppm, 4,9 (s, 2 H) ; 7,0 (s, 1 H) ; 7,5 (t, *J* = 7,6 Hz, 1 H) ; 7,7 (m, 2 H) ; 8,05 (d, *J* = 7,6 Hz, 1 H) ; 8,65 (d, *J* = 8,1 Hz, 1 H) ; 8,7 (d, *J* = 5,1 Hz, 1 H) ; spectre RMN <sup>13</sup>C (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm, 106,8 ; 112,0 ; 117,0 ; 122,6 ; 125,7 ; 125,8 ; 126,5 ; 129,1 ; 130,1 ; 138,8 ; 139,1 ; 142,4 ; 145,9 ; 156,2 ; spectre Infra-rouge (ν, cm<sup>-1</sup>) : 3254, 1673, 1612, 1580, 1556, 1443, 1333, 1313 ; spectre de masse (électrospray, *m/z*) : 236 [M+H<sup>+</sup>] ;
- 20 PF (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) : 199–200 °C ; *R<sub>f</sub>* = 0,6 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1).

**■ Iodure de N-méthyl canthin-6-one**C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>IN<sub>2</sub>O - PM 362

- 25 La canthin-6-one (100 mg – 0,45 mmol) est mise en solution dans de l'iodure de méthyle (1 mL). La solution est agitée à température ambiante jusqu'à consommation du produit de départ (réaction suivie par chromatographie sur couche mince, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1). Le précipité est recueilli par filtration et lavé au dichlorométhane (150 mg – 90 %).

On obtient une poudre orange, spectre RMN  $^1\text{H}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ) :  $\delta$  ppm, 4,6 (s, 3 H) ; 7,4 (d,  $J = 10,0$  Hz, 1 H) ; 7,7 (t,  $J = 7,7$  Hz, 1 H) ; 8,0 (t,  $J = 7,8$  Hz, 1 H) ; 8,6 (m, 3 H) ; 8,9 (d,  $J = 6,3$  Hz, 1 H) ; 9,1 (d,  $J = 6,3$  Hz, 1 H) ; spectre RMN  $^{13}\text{C}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm, 44,3 ; 116,8 ; 119,1 ; 122,5 ; 125,7 ; 127,4 ; 127,5 ; 130,2 ; 133,3 ; 133,7 ; 134,7 ; 136,1 ; 141,4 ; 142,7 ; 158,0 ; spectre Infra-rouge ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ) : 1684, 1655, 1340, 1257, 1142 ; spectre de masse (électrospray,  $m/z$ ) : 235 [ $\text{M}^+$ ] ; PF ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) : 240 °C.

**Exemple 3 : Méthodologie des essais *in vivo* sur *Trypanosoma cruzi* en phase aigüe :**

10 Animaux et parasites : Les souris de type Balb/c sont élevées dans l'animalerie de l'Institut d'Investigations des Sciences Médicales (IICS, Asuncion, Paraguay) et sont âgées de 6 à 8 semaines lors des protocoles expérimentaux.

Pour ces essais, la souche CL (clône Brener) de *T. cruzi* est employée sous la forme circulante du parasite (trypomastigotes). Les animaux sont infectés par voie intrapéritonéale avec 5000 parasites, cette souche produit son pic de parasites 21 à 25 jours après l'infection. Chaque semaine le nombre de parasites est contrôlé par prélèvement sanguin au niveau de la queue de la souris.

Infection et traitement : Les traitements avec le benznidazole, le médicament de référence et la canthin-6-one débutent 11 jours après l'infection parasitaire à raison de 50 mg/kg ou 200 mM/kg pour le benznidazole et à la concentration de 5 mg/kg ou 20 mM/kg pour la canthin-6-one. La durée des traitements est fixée à deux semaines et la voie d'administration choisie est la voie orale pour le benznidazole et la canthin-6-one, par ailleurs un groupe de souris est traité avec la canthin-6-one par voie sous cutanée. Les souris non traitées et infectées reçoivent 100  $\mu\text{l}$  d'une solution saline phosphatée tamponnée.

25 Critères d'évaluation de l'efficacité des traitements :

- comptage hebdomadaire du nombre de parasites circulant dans le sang périphérique pendant la durée de l'expérimentation, soit 10 semaines.

- observation de la mortalité,

- deux évaluations sérologiques, 40 jours post-infection soit 15 jours après cessation du traitement et 68 jours post-infection soit 45 jours post-traitement. L'évaluation sérologique est effectuée à l'aide d'un test ELISA (enzyme linked immunoassay) kit Chagas, IISC, Asuncion. Les densités optiques sont mesurées avec un lecteur de plaques ELISA (Titerek, Unistan, I).

35 Etudes statistiques : La moyenne et les déviations standard de chaque groupe sont calculées, les différences entre les groupes sont déterminées par le test de Student et le test non-paramétrique d'analyse de variance de Kruskal-Wallis. Les comparaisons s'effectuent entre le groupe non traité et les groupes traités,  $P < 0,05$ .

Les résultats sont exposés dans les tableaux I et II et sur les figures 2, 3 et

4.

# TABLEAU I

5

**Efficacité de la canthin-6-one, du benznidazole sur des souris infectées expérimentalement avec *Trypanosoma cruzi***

**Evaluation parasitologique (Nombre de parasites  $\pm$  Déviation standard)**

Jours post-infection	Témoins non traités (n = 8)	Benznidazole (n = 8)	Canthin-6-one Oral (n = 7)	Canthin-6-one Sous cutanée (n = 8)
4	0	0	0	0
11*	90.9 $\pm$ 257	0	0	0
18*	313.6 $\pm$ 468.7	34.9 $\pm$ 98.6	286 $\pm$ 515.9	766.3 $\pm$ 719.2
25*	387.3 $\pm$ 671.1	250.1 $\pm$ 503.5	402 $\pm$ 837.7	88.4 $\pm$ 142.9
32	242.1 $\pm$ 553.2	296.8 $\pm$ 625.5	426.2 $\pm$ 664.5	267.5 $\pm$ 546.5
39	870.5 $\pm$ 1902.1	118.3 $\pm$ 192.9	36.6 $\pm$ 58.4	2077.1 $\pm$ 2214.2
45	835.8 $\pm$ 1022.7	300.8 $\pm$ 431.6	34.4 $\pm$ 76.9 P=0.05	314.1 $\pm$ 499.3
53	1273.3 $\pm$ 1647.8	23.3 $\pm$ 65.8 P=0.01	58.4 $\pm$ 80.6 P=0.05	473.4 $\pm$ 921.9
60	1050.1 $\pm$ 2605.5	65.3 $\pm$ 93.2	16 $\pm$ 35.8 P<0.05	129.9 $\pm$ 194.4
68	1144.1 $\pm$ 1641.9	9.4 $\pm$ 26.5 P=0.03	0 P=0.02	34.9 $\pm$ 98.6 P=0.03

10

\* Période de traitement (deux semaines)

n = nombre de souris

15

20

25

TABLEAU II :

- 5 Effet du traitement avec la canthin-6-one ou du benznidazole sur des souris Balb/c infectées avec *T. cruzi*.  
Evaluation sérologique (test ELISA)

Traitement	Nb Souris	Voie adm.	1 <sup>a</sup> sérologie ®	Sérologie négative/ survivant	2 <sup>a</sup> sérologie ∇	Sérologie négative/ survivant
Témoins non traités (PBS)	8	Oral	0.3985 ± 0.092	0 / 8 (0%)	0,1598 ± 0,382.3	0 / 8 (0%)
Benznidazole (médicament de référence) (50 mg)	8	Oral	0.1692 ± 0.1179 P < 0.001	6/8 (75%)	0,7934 ± 0,8607 P < 0.05	3 / 8 (37.5%)
Canthin-6-one (5 mg)	7	Oral	0.1105 ± 0.0387 P < 0.001	7 / 7 (100%)	0,3953 ± 0,7531 P < 0.05	3 / 7 (42.9%)
Canthin-6-one (5 mg)	8	SC	0.2151 ± 0.1447 P < 0.05	4 / 7 (57.1%)	0,1347 ± 0,6327 P < 0.001	2 / 6 (33.3%)

Sérologie: ELISA anti-*T. cruzi*.

- 10 ® 40 jours post-infection; 15 jours post-traitement  
 ∇ 68 jours post-infection; 45 jours post-traitement.  
 Valeur de *P* versus témoins non traités

- 15 Comme on peut le constater sur la figure 2, la canthin-6-one administrée par voie orale, à une dose de 5 mg/kg/j montre à partir du 39<sup>ème</sup> jour après l'infestation, et 15 jours après la fin du traitement, une activité bien supérieure au benznidazole employé à la dose de 50 mg/kg/j. Elle permet une éradication totale de *Trypanosoma cruzi* de l'organisme infecté, ce qui ne permet pas d'obtenir le benznidazole. Ces résultats sont confirmés par la mesure de la densité optique (ELISA) à
- 20 15 et 48 jours après la fin du traitement comme cela est illustré sur les figures 3 et 4.

**Exemple 4 : Méthodologie des essais *in vivo* sur *Trypanosoma cruzi***  
**en phase chronique**

**Animaux et parasites:**

Les souris de type Balb/c sont élevées dans l'animalerie de l'Institut d'Investigations des Sciences de la Santé (IICS, Asuncion, Paraguay et sont âgées de 6 à 8 semaines lors des protocoles expérimentaux. Pour ce protocole expérimental, la souche CL (clône Brener) de *T. cruzi* est utilisée sous la forme circulante (trypomastigotes), la souche est maintenue en culture de routine sur modèle animal par passage tous les 14 jours. Les animaux sont infectés par voie intrapéritonéale avec 1000 parasites. Dans ces conditions expérimentales, il se produit un lent développement des parasites, cette souche produit son pic de parasites 21 à 28 jours après l'infection. La majorité des souris survivent (70-80 %) avec une légère détérioration de leur état général physique et avec une parasitémie absente ou sub-patente. Chaque semaine le nombre de parasites est contrôlé par prélèvement au niveau de la queue de la souris.

**Infection et traitements :**

Pour cette expérimentation de longue durée, les traitements démarrent 120 jours après l'infection parasitaire quand la parasitémie est sub-patente chez toutes les souris. Les souris sont ensuite divisées en groupes au hasard. Les traitements avec le benznidazole, le médicament de référence, sont administrés à la concentration de 50 mg/kg ou 200 mM/kg par jour pendant 20 jours par voie orale. La canthin-6-one est administrée soit par voie orale, soit par voie sous-cutanée à la concentration de 5 mg/kg ou 20 mM/kg par jour pendant 20 jours. Un extrait total dichlorométhanique d'écorces de tronc de *Zanthoxylum chiloperone* var. *angustofium* est administré soit par voie orale, soit par voie sous-cutanée à la concentration de 50 mg/kg par jour pendant 20 jours. Pour l'administration, les principes actifs sont dissous dans 50 µl d'une solution saline phosphatée tamponnée (PBS). Les souris non traitées et infectées reçoivent 50 µl de PBS.

**Critères d'évaluation de l'efficacité des traitements :**

- comptage hebdomadaire du nombre de parasites circulant dans le sang périphérique pendant la durée de l'expérimentation, soit 30 semaines.
- Observation de la mortalité
- Trois évaluations sérologies, 45 jours avant le début des traitements, 10 jours après la cessation du traitement et 75 jours post-traitement. L'évaluation sérologique est effectuée à l'aide d'un test ELISA (enzyme linked immuno assay) kit Chagas, IICS, Asuncion. Les densités optiques sont mesurées avec un lecteur de plaques ELISA (Titerek Unistan I).

**Etudes statistiques :**

La moyenne et les déviations standard de chaque groupe sont calculées, les différences entre les groupes sont déterminées par le test de Student et le test non-paramétrique d'analyse de variance de Kruskal-Wallis. Les comparaisons s'effectuent entre le groupe non traité et les groupes traités,  $P < 0,05$ .

Les résultats sont présentés dans les tableaux III et IV.

**Tableau III**

Cures parasitologiques chez des souris infectées chroniquement par *T. cruzi* et traitées pendant 20 jours avec le benznidazole ( $n=5$ ), la canthin-6-one ( $n=8$ ) et un extrait total de *Zanthoxylum chiloperone* var. *angustifolium* ( $n=7$ )

Traitement*	Parasitémie négative/nombre de souris survivantes (nombre de jours post-traitement)			
	0	10 j	40 j	60 j
Souris témoins non traitées	5/5	2/4	1/1	1/1
Benznidazole (50 mg/kg/j) voie orale	5/5	2/5	5/5	5/5
Canthin-6-one (5 mg/kg) voie orale	7/8	7/8	8/8	8/8
Canthin-6-one (5 mg/kg/j) voie sous-cutanée	6/8	7/8	6/8	6/8
Extrait total d'écorces de <i>Z. chiloperone</i> (50 mg/kg/j) voie orale	7/7	7/7	7/7	7/7
Extrait total d'écorces de <i>Z. chiloperone</i> (50 mg/kg/j) voie sous-cutanée	4/6	4/6	5/5	3/5

\* traitements 108 jours après l'infection parasitaire

**Tableau IV**

Effet du traitement avec la canthin-6-one, ou un extrait total de *Zanthoxylum chiloperone* var. *angustifolium* ou du benznidazole sur des souris Balb/c infectées chroniquement avec *T. cruzi*.

5

Traitement	ELISA (densité optique $\pm$ déviation standard)		
	Nombre de jours post-traitement		
	43 jours avant-traitement	10 j	75 j
Souris témoins non traitées	1,805 $\pm$ 0,075	1,913 $\pm$ 0,115	1,793*
Benznidazole (50 mg/kg/j) voie orale	2,072 $\pm$ 0,220	1,712 $\pm$ 0,473	1,979 $\pm$ 0,350
Canthin-6-one (5 mg/kg) voie orale	1,878 $\pm$ 0,348	1,621 $\pm$ 0,547	1,799 $\pm$ 0,333
Canthin-6-one (5 mg/kg/j) voie sous-cutanée	1,916 $\pm$ 0,368	1,850 $\pm$ 0,405	1,870 $\pm$ 0,268
Extrait total d'écorces de <i>Z. chiloperone</i> (50 mg/kg/j) voie orale	1,932 $\pm$ 0,228	1,890 $\pm$ 0,288	1,961 $\pm$ 0,172
Extrait total d'écorces de <i>Z. chiloperone</i> (50 mg/kg/j) voie sous-cutanée	1,718 $\pm$ 0,264	1,703 $\pm$ 0,470	1,815 $\pm$ 0,374

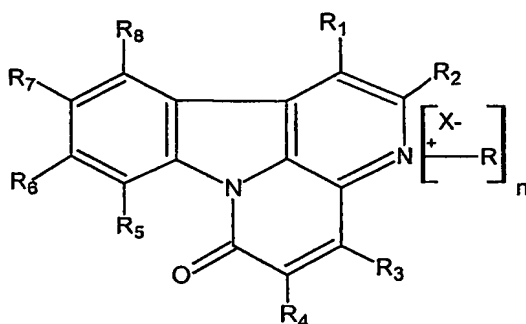
\* une seule souris vivante en fin d'expérimentation

Comme on peut le constater dans le tableau III, la canthin-6-one administrée par voie orale, à une dose de 5 mg/kg/j pendant 20 jours à partir du 108<sup>ème</sup> jour après l'infection parasitaire, et 79 jours après la fin du traitement, a montré une activité supérieure au benznidazole employé à la dose de 50 mg/kg/j. Elle induit une éradication totale de *Trypanosoma cruzi* de l'organisme infecté et protège les souris de la mort. Ces résultats sont confirmés en sérologie par le test ELISA à 10 et 75 jours après la fin du traitement comme cela est illustré par les données du tableau IV.

10

## REVENDICATIONS

1. Utilisation pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement d'une trypanosomiase d'un composé répondant à la formule (I) :



5

(I)

- dans laquelle R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub> représentent indépendamment l'un de l'autre :
- un atome d'hydrogène,
  - un groupement alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé,
  - un atome d'halogène choisi parmi le chlore, le fluor, le brome et l'iode,
  - un groupement halogénoalkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> dont la chaîne alkyle peut être linéaire, ramifiée ou cyclique, saturée ou insaturée, et le ou les atomes d'halogène sont choisis parmi le fluor, le chlore, le brome et l'iode,
  - une fonction hydroxyle,
  - une fonction nitro -NO
  - une fonction cyano -CN
  - une fonction -SH
  - une fonction acide carboxylique -COOH
  - une fonction amide -CONH<sub>2</sub>
  - une fonction amine -NH<sub>2</sub>
  - une fonction alcoxy en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> dans laquelle le groupement alkyle peut être linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé,
  - une fonction ester d'alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, dans laquelle le groupement alkyle peut être linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé

- une fonction alkyl amide secondaire ou tertiaire dans laquelle le ou les groupements alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> peuvent être linéaires, ramifiés ou cycliques, saturés ou insaturés,

- une fonction alkylamine secondaire ou tertiaire dans laquelle le ou les groupements alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> peuvent être linéaires, ramifiés ou cycliques, saturés ou insaturés,

- une fonction alkylthio en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, dans laquelle le groupement alkyle peut être linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé,

- un groupement hétérocyclique en C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> comportant 1 à 4 hétéroatomes choisis parmi le soufre, l'azote et l'oxygène,

- un groupement -SO<sub>2</sub>-NR'R'' ou un groupement -NR'-SO<sub>2</sub>-R'' dans lesquels R' et R'' représentent indépendamment l'un de l'autre un groupement alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé ;

n représente 0 ou 1 ;

R représente un groupement alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé,

X<sup>-</sup> représente un anion qui peut être choisi parmi les anions minéraux ou organiques.

2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le composé de formule (I) est la canthin-6-one.

3. Utilisation de la canthin-6-one, pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement d'une trypanosomiase selon la revendication 2, caractérisée en ce que la canthin-6-one est présente sous forme d'un extrait de plante.

4. Utilisation selon la revendication 3, caractérisée en ce que la canthin-6-one est présente sous forme d'un extrait d'une plante choisie parmi : *Ailanthus altissima*, *Brucea antidysenterica*, *Eurycoma harmandiana*, *Peganum nigellastrum*, *Zanthoxylum elephantiasis* et *Zanthoxylum chiloperone*.

5. Utilisation selon la revendication 4, caractérisée en ce que la canthin-6-one est présente sous forme d'un extrait de *Zanthoxylum chiloperone* var. *angustifolium*.

6. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement d'une trypanosomiase dans sa phase chronique et sa phase aiguë.

7. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement de la maladie de Chagas.

8. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 6 précédentes, caractérisée en ce qu'elle est destinée au traitement d'une trypanosomiase causée par l'agent *Trypanosoma brucei*.

9. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 précédentes, caractérisée en ce qu'elle est destinée au traitement d'une trypanosomiase causée par l'agent *Trypanosoma cruzi*

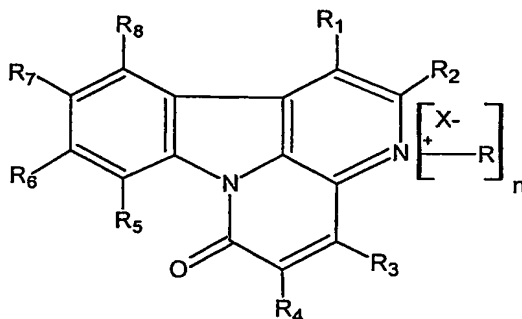
5 10. Utilisation selon la revendication 5, caractérisée en ce que l'extrait de plante contenant la canthin-6-one est obtenu par un procédé comportant une première étape qui consiste à broyer les écorces séchées du tronc de *Zanthoxylum chiloperone* var. *angustifolium* puis à les traiter par une solution alcaline aqueuse.

10 11. Utilisation selon la revendication 10, caractérisée en ce que l'extrait de plante contenant la canthin-6-one est obtenue par un procédé comportant une seconde étape consistant en une extraction par un solvant organique chloré.

12. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 à 11 précédentes, caractérisée en ce que le médicament est destiné à être administré à une dose comprise entre 0,01 et 100 mg/kg/j de composé de formule (I), de préférence entre 0,1 et 50 mg/kg/j, encore plus préférentiellement entre 1 et 20 mg/kg/j.

15 13. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que le médicament est destiné à être administré par voie orale.

14. Composé répondant à la formule (I) :



20 (I)  
dans laquelle R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub> représentent indépendamment l'un de l'autre :

- un atome d'hydrogène,
- un groupement alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> linéaire, ramifié ou cyclique, saturé
- 25 ou insaturé,
- un atome d'halogène choisi parmi le chlore, le fluor, le brome et l'iode,
- un groupement halogénoalkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> dont la chaîne alkyle peut être linéaire, ramifiée ou cyclique, saturée ou insaturée, et le ou les atomes d'halogène sont
- 30 choisis parmi le fluor, le chlore, le brome et l'iode,

- une fonction hydroxyle,
  - une fonction nitro -NO
  - une fonction cyano -CN
  - une fonction -SH
  - 5      • une fonction acide carboxylique -COOH
  - une fonction amide -CONH<sub>2</sub>
  - une fonction amine -NH<sub>2</sub>
  - une fonction alcoxy en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> dans laquelle le groupement alkyle  
peut être linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé,
  - 10      • une fonction ester d'alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, dans laquelle le groupement  
alkyle peut être linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé
  - une fonction alkyl amide secondaire ou tertiaire dans laquelle le ou  
les groupements alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> peuvent être linéaires, ramifiés ou cycliques, saturés ou  
insaturés,
  - 15      • une fonction alkylamine secondaire ou tertiaire dans laquelle le ou  
les groupements alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> peuvent être linéaires, ramifiés ou cycliques, saturés ou  
insaturés,
  - une fonction alkylthio en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub>, dans laquelle le groupement alkyle  
peut être linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé,
  - 20      • un groupement hétérocyclique en C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub> comportant 1 à 4  
hétéroatomes choisis parmi le soufre, l'azote et l'oxygène
  - un groupement -SO<sub>2</sub>-NR'R'' ou un groupement -NR'-SO<sub>2</sub>-R'' dans  
lesquels R' et R'' représentent indépendamment l'un de l'autre un groupement alkyle en  
C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> linéaire, ramifié ou cyclique, saturé ou insaturé ;
  - 25      n représente 0 ou 1 ;
  - R représente un groupement alkyle en C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> linéaire, ramifié ou  
cyclique, saturé ou insaturé,
  - X<sup>-</sup> représente un anion qui peut être choisi parmi les anions minéraux ou  
organiques,
  - 30      l'un au moins de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub> et R<sub>8</sub> étant différent de H, ou  
alors n=1.
15. Composé selon la revendication 14, caractérisé en ce que X<sup>-</sup> est  
choisi parmi : l'ion Cl<sup>-</sup>, l'ion Br<sup>-</sup>, l'ion I<sup>-</sup>, l'ion S<sup>-</sup>, l'ion PO<sub>3</sub><sup>-</sup>, l'ion NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, l'ion acétate, l'ion  
oxalate, l'ion tartarate, l'ion succinate, l'ion maléate, l'ion fumarate, l'ion gluconate, l'ion  
35 citrate, l'ion malate, l'ion ascorbate, l'ion benzoate.
16. Composé selon la revendication 14 ou la revendication 15, caractérisé  
en ce que l'une ou plusieurs des conditions ci-dessous sont remplies :

-  $R_3$  représente un groupement  $NH_2$  ou un groupement alkylamine en  $C_1-C_{12}$  ou un groupement alkylamide en  $C_1-C_{12}$  ou un hétérocycle en  $C_2-C_6$  comprenant au moins une fonction amine ;

5     -  $R_4$  représente un groupement hydroxyle ou un groupement alcoxy en  $C_1-C_{12}$  ;

-  $R_1 = R_2 = R_5 = R_6 = R_7 = R_8 = H$ .

17. Composé selon l'une quelconque des revendications 14 à 16, caractérisé en ce que l'une ou plusieurs des conditions ci-dessous sont remplies :

10     -  $R_3$  représente un groupement  $NH_2$  ou un groupement alkylamine en  $C_1-C_6$  ou un groupement alkylamide en  $C_1-C_6$  ou un hétérocycle en  $C_2-C_6$  comprenant au moins une fonction amine ;

-  $R_4$  représente un groupement hydroxyle ou un groupement alcoxy en  $C_1-C_6$  ;

-  $R_1 = R_2 = R_5 = R_6 = R_7 = R_8 = H$ .

15     18. Composé selon l'une quelconque des revendications 14 à 17, caractérisé en ce que l'une ou plusieurs des conditions ci-dessous sont remplies :

-  $R_3$  représente un groupement  $NH_2$  ;

-  $R_4$  représente un groupement  $OCH_3$  ;

-  $R_1 = R_2 = R_5 = R_6 = R_7 = R_8 = H$ .

20     19. Composé selon l'une quelconque des revendications 14 à 18, caractérisé en ce que  $R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = R_5 = R_6 = R_7 = R_8 = H$  et  $n=1$ , R est un groupement alkyle en  $C_1-C_6$ .

20. Composé selon l'une quelconque des revendications 14 à 18, caractérisé en ce qu'il est choisi parmi :

25     - la 4-amino canthin-6-one ;

- l'iodure de N-méthyl canthin-6-one ;

- la 5-méthoxy canthin-6-one.

30     21. Médicament, caractérisé en ce qu'il comprend un composé selon l'une quelconque des revendications 14 à 20 dans un support pharmaceutiquement acceptable.

Schéma d'extraction des écorces de *Zanthoxylum chiloperone* (Rutaceae)

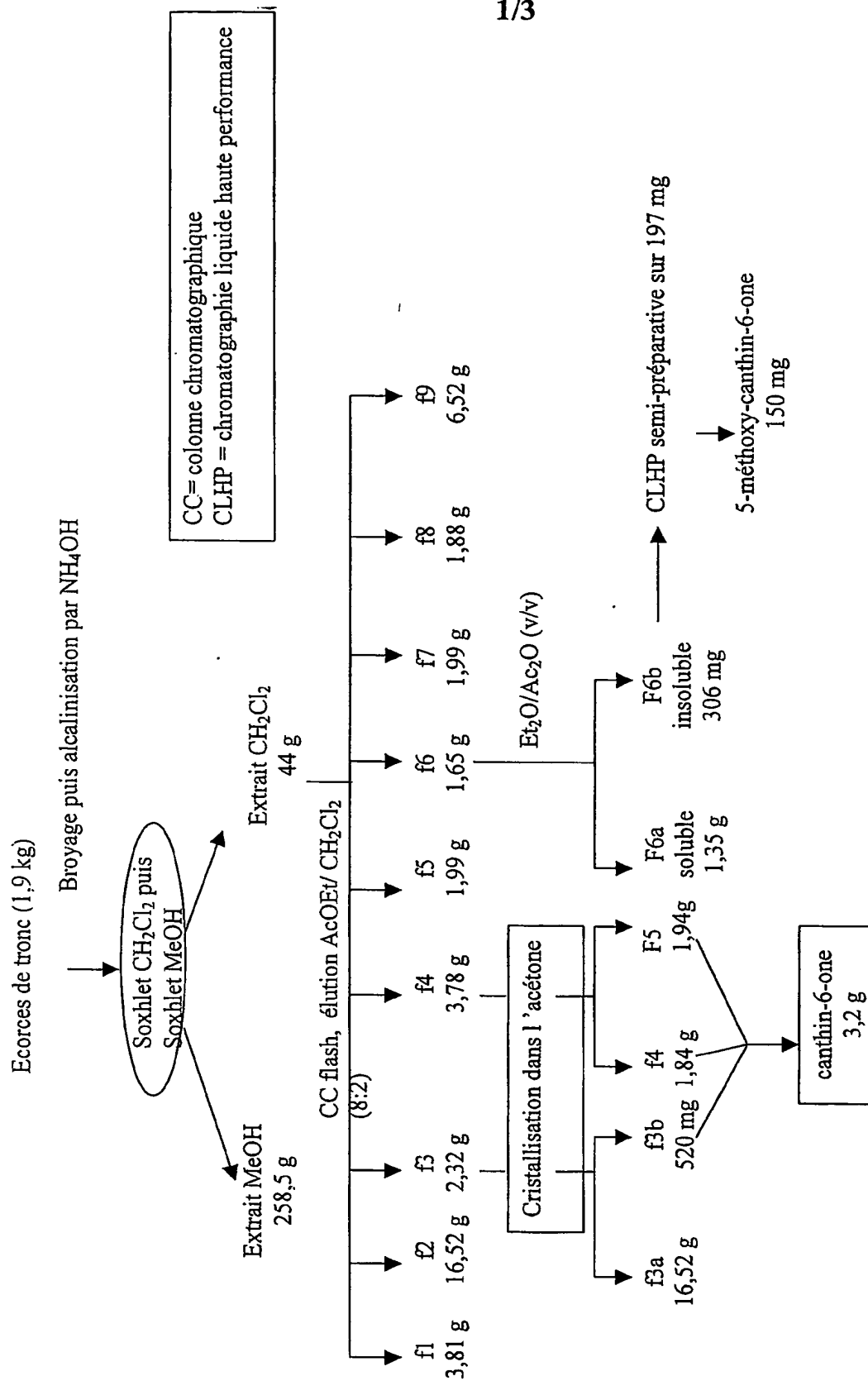


FIGURE 1

Efficacité de la canthin-6-one, du benznidazole sur des souris infectées expérimentalement avec *Trypanosoma cruzi*

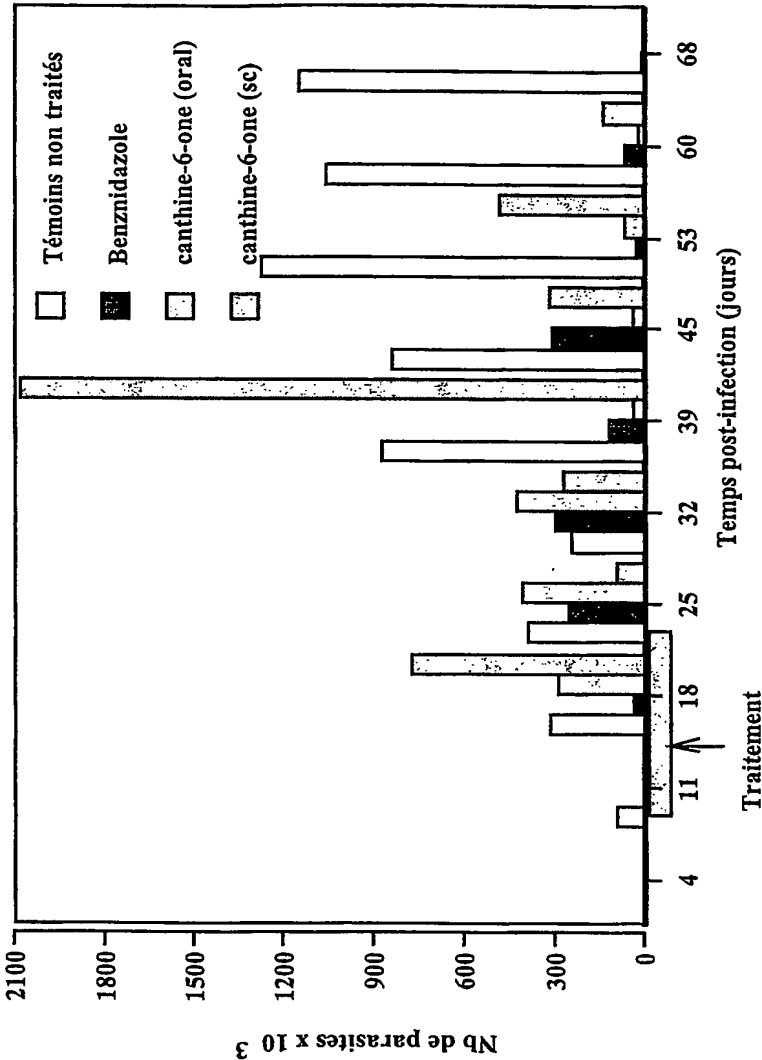


FIGURE 2

**Effet du traitement avec la canthin-6-one ou du benznidazole sur des souris Pearl Bright infectées avec *T. cruzi*. Evaluation sérologique (test ELISA)**

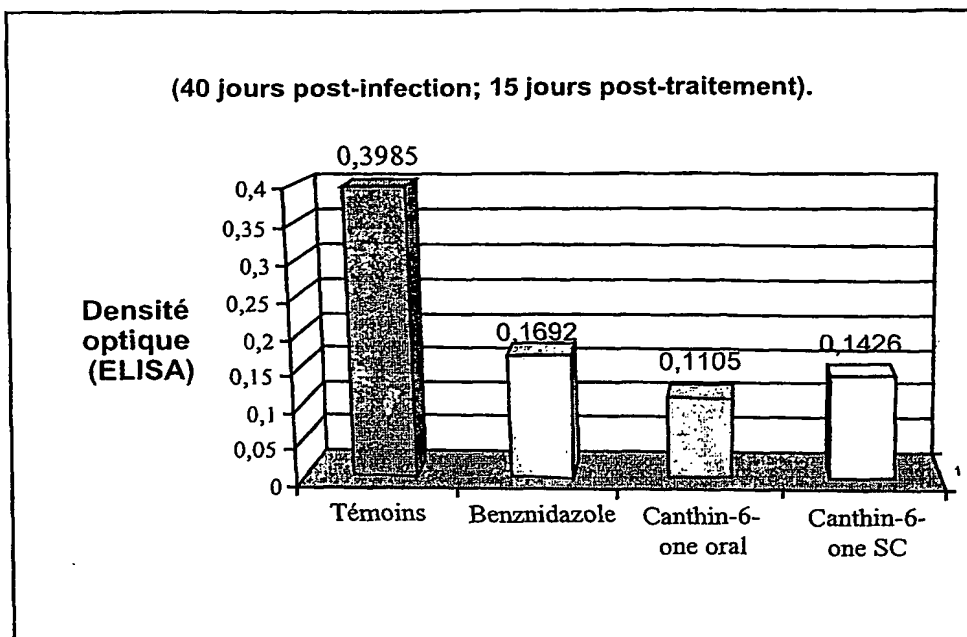


FIGURE 3

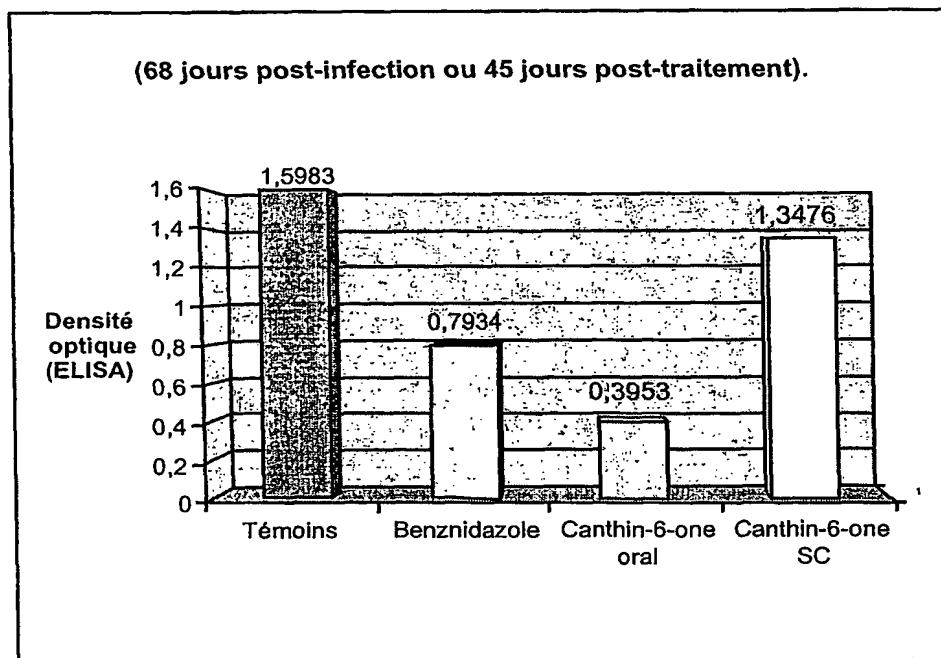


FIGURE 4

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 03/03459

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K31/4375 A61K35/78 A61P33/02 C07D471/16

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K A61P C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE, CHEM ABS Data, PASCAL, SCISEARCH, CANCERLIT

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	WO 03/094990 A (HORRES ROLAND ;DI BIASE DONATO (DE); FAUST VOLKER (DE); HEMOTEQ GM) 20 November 2003 (2003-11-20) page 24, line 20 - line 29 page 27, line 4 - line 5 ---	14,21
X	ODEBIYI O O ET AL: "ANTIMICROBIAL ALKALOIDS FROM A NIGERIAN CHEWING STICK (FAGARA ZANTHOXYLOIDES)" PLANTA MEDICA, THIEME, STUTTGART, DE, vol. 36, no. 3, 1979, pages 204-207, XP008007203 ISSN: 0032-0943	14,16-18
Y	page 205, column 2, paragraph 2 ----- -/--	1-13,15, 19-21



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 April 2004

Date of mailing of the international search report

07/05/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Albrecht, S

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 03/03459

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FERREIRA M E ET AL: "LEISHMANICIDAL ACTIVITY OF TWO CANTHIN-6-ONE ALKALOIDS, TWO MAJOR CONSTITUENTS OF ZANTHOXYLUM CHILOPERONE VAR. ANGUSTIFOLIUM" JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY, ELSEVIER SCIENTIFIC PUBLISHERS LTD, IE, vol. 80, no. 2/3, 2002, pages 199-202, XP001104505 ISSN: 0378-8741	14, 16-18, 20,21
Y	page 200, chapitre "Drug treatment"	15,19
	page 201, chapitre "Results and discussion"	
A	the whole document	1-13
X	----- DIEHL E E ET AL: "CONSTITUENTS OF ZANTHOXYLUM RUGOSUM ST.-HIL & TUL" BIOCHEMICAL SYSTEMATICS AND ECOLOGY, PERGAMON PRESS, GB, vol. 3, no. 28, 2000, pages 275-277, XP008007208 ISSN: 0305-1978	14, 16-18,20
Y	page 276, paragraph 3	15,19,21
A	the whole document	1-13
X	----- KANCHANAPOOM T ET AL: "CANTHIN-6-ONE AND BETA-CARBOLINE ALKALOIDS FROM EURYCOMA HARMANDIANA" PHYTOCHEMISTRY, PERGAMON PRESS, GB, vol. 56, no. 4, February 2001 (2001-02), pages 383-386, XP001086497 ISSN: 0031-9422	14,16-18
Y	cited in the application page 384, composés 2-5	15,19-21
A	the whole document	1-13
X	----- HARRIS A ET AL: "CANTHIN-6-ONE ALKALOIDS FROM BRUCEA ANTIDYSENTERICA ROOT BARK" PLANTA MEDICA, THIEME, STUTTGART, DE, vol. 2, 1985, pages 151-153, XP008007205 ISSN: 0032-0943	14, 16-18,20
Y	page 151, colonne 2, composés 1-4	15,19,21
A	the whole document	1-13
X	----- CHAN K L ET AL: "PLANTS AS SOURCES OF ANTIMALARIAL DRUGS. PART 3 EURYCOMA LONGIFOLIA" PLANTA MEDICA, THIEME, STUTTGART, DE, no. 2, 1986, pages 105-107, XP008007198 ISSN: 0032-0943	14
A	page 105, composé 9 the whole document	1-13, 15-21
	----- -/--	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 03/03459

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KOIKE, KAZUO ET AL: "Synthesis and antitumor activity of canthin-5,6-dione derivatives" HETEROCYCLES (1999), 51(2), 315-323 , XP001180668 page 316, composé 14 -----	14-18
Y	FREIBURGHaus F ET AL: "Evaluation of African medicinal plants for their in vitro trypanocidal activity" JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY, ELSEVIER SCIENTIFIC PUBLISHERS LTD, IE, vol. 55, 1996, pages 1-11, XP002212312 ISSN: 0378-8741 pages 4-7, chapitre "Discussion" tables 2,3 -----	1-13
A	FREIBURGHaus F ET AL: "In vitro trypanocidal activity of some rare Tanzanian medicinal plants" ACTA TROPICA, ELSEVIER SCIENCE BV., AMSTERDAM, NL, vol. 67, no. 3, 1997, pages 181-185, XP002212313 ISSN: 0001-706X the whole document -----	1-13

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 03/03459

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
WO 03094990	A	20-11-2003	DE	10221055 A1		27-11-2003
			WO	03094990 A1		20-11-2003
			WO	03094991 A1		20-11-2003
			DE	10261986 A1		18-03-2004
<hr/>						

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Deposition internationale No  
PCT/FR 03/03459

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 7 A61K31/4375 A61K35/78 A61P33/02 C07D471/16

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 A61K A61P C07D

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE, CHEM ABS Data, PASCAL, SCISEARCH, CANCERLIT

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie °	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
P,X	WO 03/094990 A (HORRES ROLAND ;DI BIASE DONATO (DE); FAUST VOLKER (DE); HEMOTEQ GM) 20 novembre 2003 (2003-11-20) page 24, ligne 20 - ligne 29 page 27, ligne 4 - ligne 5	14,21
X	ODEBIYI O O ET AL: "ANTIMICROBIAL ALKALOIDS FROM A NIGERIAN CHEWING STICK (FAGARA ZANTHOXYLOIDES)" PLANTA MEDICA, THIEME, STUTTGART, DE, vol. 36, no. 3, 1979, pages 204-207, XP008007203 ISSN: 0032-0943	14,16-18
Y	page 205, colonne 2, alinéa 2	1-13,15, 19-21
	--- -/--	

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

- \*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- \*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- \*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- \*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- \*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- \*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- \*X\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- \*Y\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- \*&\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

27 avril 2004

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

07/05/2004

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Albrecht, S

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Deposition Internationale No

PCT/FR 03/03459

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	FERREIRA M E ET AL: "LEISHMANICIDAL ACTIVITY OF TWO CANTHIN-6-ONE ALKALOIDS, TWO MAJOR CONSTITUENTS OF ZANTHOXYLUM CHILOPERONE VAR. ANGUSTIFOLIUM" JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY, ELSEVIER SCIENTIFIC PUBLISHERS LTD, IE, vol. 80, no. 2/3, 2002, pages 199-202, XP001104505 ISSN: 0378-8741	14, 16-18, 20,21
Y	page 200, chapitre "Drug treatment"	15,19
	page 201, chapitre "Results and discussion"	
A	le document en entier	1-13
X	DIEHL E E ET AL: "CONSTITUENTS OF ZANTHOXYLUM RUGOSUM ST.-HIL & TUL" BIOCHEMICAL SYSTEMATICS AND ECOLOGY, PERGAMON PRESS, GB, vol. 3, no. 28, 2000, pages 275-277, XP008007208 ISSN: 0305-1978	14, 16-18,20
Y	page 276, alinéa 3	15,19,21
A	le document en entier	1-13
X	KANCHANAPOOM T ET AL: "CANTHIN-6-ONE AND BETA-CARBOLINE ALKALOIDS FROM EURYCOMA HARMANDIANA" PHYTOCHEMISTRY, PERGAMON PRESS, GB, vol. 56, no. 4, février 2001 (2001-02), pages 383-386, XP001086497 ISSN: 0031-9422	14,16-18
Y	cité dans la demande page 384, composés 2-5	15,19-21
A	le document en entier	1-13
X	HARRIS A ET AL: "CANTHIN-6-ONE ALKALOIDS FROM BRUCEA ANTIDYSENTERICA ROOT BARK" PLANTA MEDICA, THIEME, STUTTGART, DE, vol. 2, 1985, pages 151-153, XP008007205 ISSN: 0032-0943	14, 16-18,20
Y	page 151, colonne 2, composés 1-4	15,19,21
A	le document en entier	1-13
X	CHAN K L ET AL: "PLANTS AS SOURCES OF ANTIMALARIAL DRUGS. PART 3 EURYCOMA LONGIFOLIA" PLANTA MEDICA, THIEME, STUTTGART, DE, no. 2, 1986, pages 105-107, XP008007198 ISSN: 0032-0943	14
A	page 105, composé 9 le document en entier	1-13, 15-21
	----	
	-/--	

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Devisé Internationale No  
PCT/FR 03/03459

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	KOIKE, KAZUO ET AL: "Synthesis and antitumor activity of canthin-5,6-dione derivatives" HETEROCYCLES (1999), 51(2), 315-323 , XP001180668 page 316, composé 14 ---	14-18
Y	FREIBURGHHAUS F ET AL: "Evaluation of African medicinal plants for their in vitro trypanocidal activity" JOURNAL OF ETHNOPHARMACOLOGY, ELSEVIER SCIENTIFIC PUBLISHERS LTD, IE, vol. 55, 1996, pages 1-11, XP002212312 ISSN: 0378-8741 pages 4-7, chapitre "Discussion" tableaux 2,3 ---	1-13
A	FREIBURGHHAUS F ET AL: "In vitro trypanocidal activity of some rare Tanzanian medicinal plants" ACTA TROPICA, ELSEVIER SCIENCE BV., AMSTERDAM, NL, vol. 67, no. 3, 1997, pages 181-185, XP002212313 ISSN: 0001-706X le document en entier -----	1-13

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

### Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Des...de Internationale No

PCT/FR 03/03459

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
WO 03094990	A	20-11-2003	DE	10221055 A1	27-11-2003
			WO	03094990 A1	20-11-2003
			WO	03094991 A1	20-11-2003
			DE	10261986 A1	18-03-2004
<hr/>					